

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号  
特表2003-523409  
(P2003-523409A)

(43) 公表日 平成15年8月5日(2003.8.5)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テームコード(参考)
A 6 1 K 47/42		A 6 1 K 47/42	4 C 0 7 6
9/12		9/12	4 C 0 8 1
9/19		9/19	4 C 0 8 4
45/00		45/00	
47/04		47/04	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 25 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願2001-561372(P2001-561372)	(71) 出願人	デイビッド シエラ
(86) (22) 出願日	平成13年2月21日(2001.2.21)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 95066,
(85) 翻訳文提出日	平成14年8月22日(2002.8.22)		スコッツ バレー, タン オーク ド
(86) 国際出願番号	P C T / U S 0 1 / 0 5 6 2 4		ライブ 86
(87) 国際公開番号	W O 0 1 / 0 6 2 3 1 2	(72) 発明者	シエラ, デイビッド
(87) 国際公開日	平成13年8月30日(2001.8.30)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 95066,
(31) 優先権主張番号	6 0 / 1 8 4, 9 9 7		スコッツ バレー, タン オーク ド
(32) 優先日	平成12年2月25日(2000.2.25)		ライブ 86
(33) 優先権主張国	米国 (U S)	(74) 代理人	弁理士 山本 秀策 (外2名)
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 泡形成創傷被覆剤

(57) 【要約】

本発明は、概して、アルブミンおよび少なくとも1つのその他のタンパク質を含む泡状創傷被覆剤に関する。この泡状被覆剤は、主として、液体組成物として調製されるが、この液体に剪断力がかけられると、泡を形成する。この創傷被覆剤は、創傷の表面においてその場で泡として調製され得るか、または泡として予め調製され、そしてその後、創傷に塗布され得る。ヒトのための、生体適合性の泡状創傷被覆剤は、ヒトタンパク質を使用して調製され得る。

【請求項 16】 泡状創傷被覆剤を調製する方法であって、該方法は以下の工程：

- a) アルブミンおよび少なくとも 1 つのさらなるタンパク質を含むタンパク質の液状溶液を調製する工程；および
  - b) 該溶液を剪断力にかけ、該泡を形成する工程、
- を包含する、方法。

【請求項 17】 前記剪断力が、前記溶液に力をかけてスプレーデバイスのノズルを通過させることから生じる、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】 前記タンパク質の溶液が、凍結乾燥保存され、そしてその後、使用前に再形成される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 19】 前記少なくとも 1 つのさらなるタンパク質がリゾチームである、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 20】 前記少なくとも 1 つのさらなるタンパク質が金属結合タンパク質である、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 21】 前記金属結合タンパク質がトランスフェリンである、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】 前記溶液がさらに、前記金属結合タンパク質によってキレートされる金属イオンを含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 23】 前記溶液がさらに、該溶液の pH を低下させる酸を含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 24】 前記溶液がさらに、生物学的に活性な因子を含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 25】 請求項 16 に記載の方法であって、さらに前記泡をさらに強化するために該泡に熱源を適用する工程を包含する、方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## (発明の分野)

本発明は、泡形成創傷被覆材料ならびにこのような材料を調製および使用方法に関する。

## 【0002】

## (発明の背景)

大規模な火傷および皮膚の損失を伴うその他の開放性創傷は、しばしば、一時的な皮膚被覆剤を使用する処置を必要とする。一時的な被覆剤の目的は、以下；直接的な被覆を提供することおよびさらなる損傷から創傷を保護すること；加速する水分喪失および関連する熱の喪失の速度を低下させること；感染を予防または最小限にすること；創傷から滲出される物質（死亡した白血球、表皮細胞および真皮細胞を含む）を吸収すること；そして創傷における血管新生および組織の再生を促進することである。これらの因子は、特に、外傷性創傷および火傷（例えば、救急の医療処置から離れた野原で起こる外傷性創傷および火傷）に関連する。

## 【0003】

伝統的に、ガーゼ材料を創傷上に置くことによって、創傷が治癒するように促進されてきた。さらに最近では、多くの産物が、一時的な創傷被覆剤として使用される市場に導入されてきている。例えば、これらは、ゲル、合成泡、およびアクリルポリマースプレー溶液が挙げられる。しかしながら、このような被覆剤は、生産するのに費用がかかるか、および／または伝統的な被覆剤を越える十分な利点を提供することができない。従って、低いコストであり、使用するのに容易であり、そして従来の被覆剤を越える優れた特徴を提供する、一時的な創傷被覆剤に関する必要性が存在する。

## 【0004】

## (発明の要旨)

従って、本発明は、アルブミンおよび少なくとも1つのさらなるタンパク質を含む泡状創傷被覆剤を提供する。

## 【 0 0 0 5 】

本発明はまた、剪断力をかけられる場合に泡へ膨張する創傷被覆剤を調製するための組成物を提供し、上記組成物は、アルブミンおよび、剪断力がこの組成物に適用される場合に泡を膨張するための補助をする、少なくとも1つのさらなるタンパク質を含む。

## 【 0 0 0 6 】

さらに、本発明は、これらの組成物の多くの異なる実施形態を提供し、例えば、ヒトタンパク質、リゾチーム、金属キレートタンパク質、および／または生物学的活性剤の組成物への含有が挙げられる。

## 【 0 0 0 7 】

本発明はさらに、泡創傷被覆剤を調製する方法を提供し、上記方法は、以下の工程を包含する：

- a) アルブミンおよび少なくとも1つのさらなるタンパク質を含むタンパク質の液状溶液を調製する工程；および
- b) 上記溶液を剪断力にかけ、泡を生成する工程。

## 【 0 0 0 8 】

( 発明の詳細な説明 )

先行技術の創傷被覆剤組成物の欠陥を考慮して、滅菌性かつ安価な創傷被覆剤組成物（これは、創傷への塗布を容易にするために、使用前は液体であるが、塗布後は、インサイチュで安定な泡を形成して創傷を保護し、そして組織表面での湿性環境を維持する）を提供することが本発明の目的である。別の目的は、保存安定性であり、なお容易に調製され、そして冷蔵を必要としない被覆剤を提供することである。本発明は、これらの望ましい目的を達成するための、新しくかつ有用な組成物を提供する。

## 【 0 0 0 9 】

( 創傷被覆剤組成物 )

本発明は、特定のタンパク質が、このタンパク質を含む溶液が剪断力に供される場合に、比較的安定な空間充填 ( s p a c e - f i l l i n g ) 泡を形成し得るという発見に基づく。このような創傷被覆剤組成物は、天然の供給源から、こ

のタンパク質をコードする組換えDNAで形質転換された細胞から得られ得るか、または合成的に産生され得るタンパク質を含む。

#### 【 0 0 1 0 】

アルブミンは、一般に、約6 g / L、および40 g / Lまでの濃度でこの組成物中に存在する。しかし、アルブミンの実際の濃度は、いくらかこの組成物に含まれる他のタンパク質または添加剤に依存して変化し得る。アルブミンの最適濃度は、アルブミン濃度を変化させ、次いで本質的に実施例1に記載されるように、この泡の体積膨張指数を測定することによって、過度の実験なしで容易に決定され得る。

#### 【 0 0 1 1 】

本発明の創傷被覆剤組成物に有用なアルブミンは、動物の血清または血漿（例えば、ヒト、ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、またはブタ由来のものを含む）から得られ得る。ヒトアルブミンは、ヒトでの使用に意図される創傷被覆剤における使用のための好ましいアルブミンである。なぜなら、このタンパク質は、ヒトにおいて非免疫原性であるためである。ヒト血液ドナー由来のプールされた古い血漿は、ヒトアルブミンが得られる出発材料の特に経済的な供給源である。鶏卵の卵白由来のオボアルブミンもまた、動物アルブミン供給源の代わりに使用され得る。

#### 【 0 0 1 2 】

血漿または血清から比較的純粋な形態でアルブミンを単離する方法は、当該分野で周知である。大規模な商業的方法が利用可能であり、これには、米国特許第2,390,074号および同第2,469,193号（J. Amer. Chem. Soc. 68, 469-75（1946）；Kirk-Othmer, Encycl. of Chem. Tech., 3, 584-88（2d. ed. 1964）もまた参照のこと）に記載されるCohnのアルコール沈澱法、ならびにHinkの血漿タンパク質画分（米国特許第2,958,628号）が挙げられる。アルブミンは、Cohn Fraction IV-1およびCohn Fraction IV-4、またはCohn fraction V沈澱物から精製され得る。

## 【0013】

比較的純粋な形態でアルブミンを得るための他の有用な方法としては、例えば、PEG分画（例えば、米国特許第3,415,804号）、プルロニック（*pluronic*）を用いる分画（例えば、米国特許第3,850,903号）、塩分画（例えば、飽和硫酸アンモニウムによる分画）、イオン交換クロマトグラフィー（例えば、米国特許第4,228,154号；*Cohn fraction II + III* S クリオ上清（*cryosupernatant*）を使用する）、疎水性クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、および電気泳動的分離、または上記の方法の種々の組合せによる方法が挙げられる。

## 【0014】

アルブミンはまた、組換えDNA技術を使用して産生され得、そして、例えば、米国特許第5,986,062号（*Ohmura*）、同第5,962,649号（*Noda*ら）、同第5,849,874号（*Van der Laken*ら）、または同第5,759,819号（*Kobayashi*ら）に記載されるように、組換え細胞から、または組換え細胞の培地から精製され得る。

## 【0015】

本発明の創傷被覆剤組成物は、アルブミンに加えて、泡の体積の膨張を助ける少なくとも1つの他のタンパク質を含む。組成物のタンパク質が比較的安定化された創傷被覆剤の泡を形成する機構を知る必要はないが、任意の理論に束縛されることなく、安定化は、タンパク質の架橋または重合によって起こり、これが、この泡中の気泡を取り囲みそして捕捉する壁の強化を生じると考えられる。アルブミン以外の少なくとも1つのタンパク質を加えることによって、この泡は、液体組成物の体積の4～8倍膨張するはずである（すなわち、4～8の堆積膨張指数）。

## 【0016】

創傷被覆剤組成物中のタンパク質の架橋または重合は、化学的または非化学的手段によって達成される。化学的架橋が意図される場合、任意の種々の化学的架橋剤（例えば、ホモ二官能性架橋試薬またはヘテロ二官能性架橋試薬を含む）が使用され得、これらの多くは市販されている（例えば、*Pierce Chem*

i c a l C o . または S i g m a C h e m i c a l C o . を参照のこと)。  
架橋は、当該分野で周知の任意の種々の化学(例えば、活性化ポリエチレングリコール、アルデヒド、イソシアネート、マレイミドなどを含む)によって達成され得る。

#### 【 0 0 1 7 】

化学的架橋は、このようなタンパク質が架橋剤と化学的に反応し得る場合に、アルブミンを用いて任意の広範な種々のタンパク質を封入することを可能にする。このようなタンパク質として、例えば、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、または $\gamma$ グロブリンとして広く分類される血清タンパク質、ならびにゼラチンおよびコラーゲンが挙げられる。

#### 【 0 0 1 8 】

架橋または重合による泡の膨張および安定化はまた、非化学的手段によって達成され得る。例えば、この液体組成物への剪断力の適用はタンパク質を変性させ、このタンパク質が次いで重合し、泡の膨張を補助する。この点で適切なタンパク質としては、金属結合タンパク質(例えば、トランスフェリン、フェリチン(f e r r i t e n)、コンアルブミン)、および変性時に架橋また重合し得る他のタンパク質(例えば、リゾチームおよびオボムチンが挙げられる)が挙げられる。

#### 【 0 0 1 9 】

トランスフェリンは、本質的に当該分野で周知の方法(例えば、米国特許第5,744,586号(R o l f ら)、同第5,041,537号(B e t h k e ら)が挙げられる)を使用して、動物の血漿または動物の血清から得られ得る。C o h n F r a c t i o n I V (しばしば、C o h n 分画プロセスの廃棄物であるとみなされる)は、ある範囲の有用な血漿タンパク質(アルブミン、 $\alpha$ -1プロテイナーゼインヒビター( $\alpha$ -1抗トリプシンとしてもまた公知)およびトランスフェリンが挙げられる)を含む。従って、C o h n 分画プロセスの F r a c t i o n I V (詳細には、画分 I V - 1 および I V - 4)は、トランスフェリンの精製のための出発供給源として役立ち得る(例えば、J. K. I n m a n ら(V o x S a n g . 6 : 3 4 ( 1 9 6 1 ) を参照のこと; 約93%純粋な

トランスフェリンが、C o h n のアルコール沈澱画分 I V ペーストから得られた)。

#### 【 0 0 2 0 】

リゾチームは、哺乳動物供給源（組織および体液（例えば、血液、白血球、涙および乳）が挙げられる）、トリ供給源（例えば、トリの卵白）、および植物供給源から得られ得る。リゾチームは、当該分野で周知の種々の方法（例えば、米国特許第 3, 9 4 0, 3 1 7 号（K a t z ら）、同第 4, 5 0 4, 5 8 3 号（H a s a k a w a ら；結晶化による卵白からの精製）、同第 4, 5 5 2, 8 4 5 号（R e i d ら；イオン交換による卵白からの精製）、同第 4, 9 4 5, 0 5 1 号（K i k u c h i ら、ヒト組換えリゾチーム）および同第 5, 6 1 8, 7 1 2 号（S l e d z i e w s k i - ヒト組換えリゾチーム）に記載される方法が挙げられる）によって精製され得る。リゾチームはまた、哺乳動物の血清または血漿から得られ得、これは C o h n 分画方法（例えば、C o h n 画分 I V - 1）によって、または硫酸アンモニウム分画（例えば、イオン交換クロマトグラフィーによるヒトリゾチームの精製を記載する米国特許第 4, 1 0 4, 1 2 5 号を参照のこと）によって、最初に処理される。任意の機構に束縛されることを望まないが、リゾチームは、細菌の細胞壁を溶解するその能力を介して、抗菌特性を提供し得ると考えられる。

#### 【 0 0 2 1 】

コンアルブミン、オボムチン、およびリゾチームは、卵白から得られ得る。これらの成分を卵白から精製する方法は、当該分野で周知である。ゼラチンおよびコラーゲンを精製する方法もまた周知である。

#### 【 0 0 2 2 】

好ましい泡形成創傷被覆剤組成物は、アルブミン、トランスフェリンおよびリゾチームを含む。好ましい実施形態において、アルブミンは 6 g / L、トランスフェリンは 2. 2 g / L、そしてリゾチームは 0. 3 g / L で存在する。この組成物は、生理食塩水の濃度（すなわち、0. 8 5 %）で塩化ナトリウムを含み得、そして約 8 ~ 9 の p H であり得る。さらに、酒石酸が、約 0. 1 5 g / L まで添加され得る。



## 【 0 0 2 3 】

この泡の膨張および安定化は、約8～9の間のpH、より好ましくは約8のpHを得るために酸を添加することにより、この組成物のpHを制御することによって達成され得る。穏やかに塩基性のpHがこの泡を安定化する機構の知識は、この創傷被覆剤の安定化を達成するためには必要ではないが、任意の理論に束縛されることなく、穏やかに塩基性のpHがアルブミンおよび他のタンパク質を変性させ、これが、泡中に存在する気泡を取り囲む壁を重合し、そして安定化するその能力を増大すると考えられる。任意の酸（有機酸および無機酸を含む）は、この創傷被覆剤組成物のpHを低下させるために有用である。酒石酸は好ましい酸であり、そして一般に、約0.1～0.3 g / Lの間、より好ましくは約0.15 g / Lの濃度でこの組成物中に含まれ得る。

## 【 0 0 2 4 】

この泡の膨張および安定化はまた、この組成物が金属結合タンパク質（例えば、トランスフェリンまたはコンアルブミン）を含む場合に、この組成物中に金属イオンを含むことによって達成され得る。泡を安定化し得る金属イオンとしては、例えば、銅および亜鉛が挙げられるが、鉄は含まない。泡を安定化するために適切な他の金属イオンは、実施例1に記載されるような泡の体積膨張指数を測定することによって、過度の実験なく容易に同定され得る。

## 【 0 0 2 5 】

金属イオンは、金属塩（例えば、塩化金属塩）として、一般に約0.1 mM～1 mMの間、より好ましくは約0.4 mMの濃度で、創傷被覆剤組成物に添加され得る。しかし、使用のための金属イオンの最適量は、この組成物の他の成分に依存し、そして実施例1に記載されるように、濃度を変化させ、そして生じる泡の体積「および強度？」を測定することによって、容易に決定され得る。

一旦、泡が形成されると、これは約65℃～70℃のオーダーで熱を加えることによって、さらに安定化され得る。加熱は、外部熱供給源（例えば、適切な「熱ラップ（heat wrap）」の適用によって）達成され得、これは、通常救急医療キットに含まれる。創傷被覆剤の安定化を達成するためには、熱がこの泡を安定化する機構の知識は必要ではないが、任意の理論に束縛されることなく

、アルブミンおよび他のタンパク質の変性が、泡の閉じ込められた気体を取り囲む壁を強化すると考えられる。

#### 【 0 0 2 6 】

熱が使用される場合、創傷被覆剤組成物はまた、糖を含み得、この糖は、この熱がその泡安定化効果を達成するまで気泡からの気体の気化を遅延することによって、加熱された泡の排出または崩壊の妨げを助ける。種々の糖がこの目的のために使用され得、これらとしては、当該分野で周知の単純な糖および複雑な糖（例えば、スクロース、グルコース、ラクトースなど）が挙げられる。さらに、熱が適用される場合、この創傷被覆剤はまた、この被覆剤全体にわたる熱エネルギーの均一な伝播を補助するための薬剤を含み得、このような薬剤としては、例えば、レーザーはんだにおいて使用されるポルフィリンなどに類似の薬剤が挙げられる（例えば、Ozら, J. Vasc. Surg., 11: 718-25 (1980) を参照のこと）。

#### 【 0 0 2 7 】

創傷被覆剤を形成するためのタンパク質および組成物の任意の他の成分は、創傷被覆剤の形成の前に液体媒体に溶解される。このような液体媒体は、一般に、水性ベースであり、しかし非水性溶媒もまた含み得る（ただし、このような溶媒は、塗布された場合に、泡形成または安定性を阻害しないか、または創傷を刺激しない）。この組成物はまた、溶液のpH（一般的に、約pH8～9）を維持するための適合性の緩衝液を含み得る。このような緩衝液は、当該分野で周知であり、そして例えば、Tris緩衝液、リン酸緩衝液および炭酸緩衝液を含む。創傷被覆剤組成物はまた、生理食塩水の濃度（すなわち、0.85%）で、塩化ナトリウムのような塩を含み得る。

#### 【 0 0 2 8 】

この創傷被覆剤組成物はまた、感染、さらなる損傷から創傷を保護するためにか、または治療を開始するために、種々の生物学的に活性な薬剤のいずれかを含み得る。感染を防止する生物学的に活性な薬剤としては、例えば、抗ウイルス物質、抗寄生生物物質、および抗真菌物質、ならびにこれらの組合せが挙げられる。特定の例には、以下が挙げられるが、これらに限定されない：ペニシリン、セ

ファロスポリン、バンコマイシン、バシトラシン、セファロスポリン、ポリミキシン、アミカシン、ドキシサイクリン、ナイスタチン、アンホテリシンーB、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、ネオマイシン、ストレプトマイシン、カナマジン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、クリンダマイシン、リファンピン、ナリジクス酸、フルシトシン、グリセオフルビンなどのような抗菌剤；ビダラビン、アシクロビル、リバビリン、塩酸アマンタジン、インターフェロン、ジデオキシウリジンなどのような抗ウイルス剤；ナイスタチン、ゲンタマイシン、ミコナゾール、トルナフテート、ウンデシル酸およびその塩などのような抗真菌剤；ならびに、キナクリン、クロロキン、キニーネなどのような抗寄生生物剤。創傷被覆剤組成物の抗菌特性は、本質的に、Longoら、J. Pharma. Sci., 63; 1376, (1974)に記載されるか、または実施例1に記載されるような、動物モデルにおいて評価され得る。

#### 【 0 0 2 9 】

他の生物学的に活性な薬剤の例としては、以下が挙げられる：コカイン、ベンゾカイン、ノボカイン (novocaine)、リドカイン、ブピバカインなどのような麻酔剤；サリチル酸、サリチル酸エステルおよび塩、アセトアミノフェン、イブプロフェン、モルフィン、フェニルブタゾン、インドメタシン、スリダク、トルメチン、ゾメピラックなどのような鎮痛薬；インスリン、FSN、ACTH、テストステロン、抗受精化合物、エストロゲン、カルシトニンのようなホルモン化合物；酵素含有組成物；血小板誘導増殖因子、インスリン依存性増殖因子、トランスフォーミング因子型胎盤成長因子 (transforming factored placental growth factor) などのようなサイトカインまたは増殖（成長）因子；創傷治癒または血餅誘導因子；ビタミンA、レチノール、レチン酸、 $\alpha$ -トコフェロール（ビタミンE）、7-デヒドロクロレステロール (dehydrocholesterol)（ビタミンD）、ビタミンK、チアミンリボフラビン、ニコチン酸、ピリドキシン、ビオチン、アントセン酸 (antothenic acid)、アスコルビン酸、コリン、イノシトールなどのビタミンおよびビタミン誘導体；ならびに、コーゲン材料、エラスチンなどのような細胞該マトリックス成分。

## 【 0 0 3 0 】

( 組成物の調製および保存 )

本発明の創傷被覆剤組成物は、凍結乾燥されたタンパク質および他の乾燥化学的成分を使用する乾燥形態で調製され得、次いで必要とされる場合に、適切な液体溶液の添加によって後に再構成され得る。あるいは、創傷被覆剤組成物は、液体溶液として調製され得、そして後の使用のためにその状態で保存され得る。保存は、一般に、室温において、適切であり、この室温は、約 23 ~ 25℃である。しかし、この液体組成物は、所望の場合、凍結されてまたは低温（一般に、約 4℃）で保存されて、この貯蔵寿命を増加させ得る。

## 【 0 0 3 1 】

この創傷被覆剤組成物は、好ましくは、滅菌成分を用いて、そして滅菌条件下で調製されるか、または調製後に滅菌されて、創傷表面が潜在的な感染薬剤に接触することを回避する。組成物を含むタンパク質を滅菌する方法は、当該分野で周知であり、そして例えば、濾過または殺微生物剤の添加による滅菌が挙げられる。

## 【 0 0 3 2 】

液体溶液中で比較的短い半減期を有する薬剤（例えば、生物学的に活性な薬剤または化学架橋剤）は、別個に保存され得、次いで、泡形成の前に、泡状被覆剤組成物に添加され得る。

## 【 0 0 3 3 】

( 泡の調製 )

液体創傷被覆剤組成物が剪断力に供される場合、これは、泡を生成するために膨張する。適切に調製される場合、この泡は、創傷部位に塗布される液体組成物の容積の約 4 倍 ~ 約 8 倍に膨張する（すなわち、4 ~ 8 の体積膨張指数）。適切な剪断力は、スプレーノズルを介する圧力下で液体を噴霧することによって、密閉された容器中でこの溶液を激しく攪拌することによって、この溶液と混合デバイスとをブレンドすることによって、または当該分野で公知の任意の他の手段によって、塗布され得る。一旦身体に塗布されると、この泡状創傷被覆剤は、代表的に、少なくとも 1 ~ 2 時間安定であり、そして一般に、約 72 時間までに完全

に分解される。しかし、アルブミンの量に対するこの組成物中の他のタンパク質（例えば、リゾチームまたはトランスフェリン）の量は、この泡が安定である時間に影響し得る。より高い安定性は、一般にアルブミンに対するリゾチームまたはトランスフェリンの比を増加させることから生じる。一旦調製されると、この泡は、数時間、最初の泡の容積の少なくとも50%、より好ましくはその初期泡容積の約70%を維持する。

#### 【 0 0 3 4 】

泡状創傷被覆剤を形成するための組成物は、噴霧によって創傷部位に好都合に塗布される。この組成物を塗布するために有用なスプレー装置は、容器内に収容される液体組成物を噴霧するための分配手段を備える容器を備える。この液体分配手段は、ポンプ、流体加圧構成要素、または弁制御に関係するエアロゾル噴霧体であり得る。一般に、容器から霧状スプレーとしてこの液体組成物を噴霧するための任意の化学的、機械的、または電子的機構は、分配手段として適切である。1つの実施形態において、スプレー装置は、液体組成物のスプレー送達のための分配手段を備える容器内にタンパク質の液体組成物を含む。別の実施形態において、このスプレー装置は、液体エアロゾル噴霧体にタンパク質の液体組成物を含む。

#### 【 0 0 3 5 】

スプレーを分配するために使用される容器は、液体組成物を分配する方法に依存する。例えば、分配手段が、弁およびノズル機構を備えるエアロゾル噴霧体である場合、適切な容器は、エアロゾルによってそこに生成される圧力に耐えることができなくてはならない。このような圧力容器は、通常、円柱の形態であり、そして、鉄、アルミニウム合金、ガラス、またはプラスチックから構成される。他の適切は、容器としては、ボトル、チューブ、パッドなどが挙げられる。

#### 【 0 0 3 6 】

この分配手段は、容器から霧化スプレーとして液体組成物を噴霧するように作用する、任意の化学的、機械的または電氣的構成要素であり得る。この分配手段は、ポンプ、流体加圧構成要素、チューブまたはジェットを備える折り畳み可能な容器、または関連した弁機構を備えるエアロゾル噴霧体であり得る。好ましい

分配手段は、液体組成物のスプレー送達を可能にする弁機構を備えた適合可能なエアロゾル噴霧体である。

#### 【 0 0 3 7 】

スプレー装置の分配手段は、少なくとも1つのエアロゾル噴霧体から構成され得る。このエアロゾル噴霧体は、分配手段における弁の作動の際に、加圧された容器から液体組成物を分配するように作動する液化ガスまたは圧縮ガスであり得る。液体エアロゾル噴霧体が使用される場合、これが、液体組成物の任意の有機溶媒と実質的に混和性であり、そしてこの組成物のタンパク質および他の成分が噴霧体と適合性であることが好ましい。しかし、この液体噴霧体が、液体組成物と、密度が類似する場合、使用の前に、穏やかに攪拌することにより、均一な霧化噴霧体が生じ得る。気体状のエアロゾル噴霧体の場合において、気体状噴霧体は、液体組成物の任意の有機溶媒に少なくとも部分的に可溶性であることが好ましい。

#### 【 0 0 3 8 】

適切な液化エアロゾル噴霧体としては、炭化水素、フルオロクロロ炭化水素、および塩素化炭化水素のブレンドが挙げられる。フルオロクロロ炭化水素の例としては、トリクロロモノフルオロメタン、ジクロロジフルオロメタン、ジクロロモノフルオロメタン、2-テトラフルオロエタン、1, 1-ジクロロ-1, 2, 2-テトラフルオロエタン、1-クロロ-1, 1-ジフルオロエタン、1, 1-ジフルオロエタン、およびオクタフルオロシクロブタン、ならびにそれらの混合物が挙げられる。炭化水素の例としては、プロパン、イソブタン、およびN-ブタンのような液化石油ガス、ならびにそれらの混合物が挙げられる。圧縮ガス噴霧体は、好ましくは、無毒性で、非可燃性で、かつ不活性である。例としては、二酸化炭素、一酸化二窒素、およびN<sub>2</sub>などが挙げられる。

#### 【 0 0 3 9 】

このエアロゾル噴霧体は、容器内に存在し、その結果、これは、液体組成物と混合されるか、または気体噴霧体の場合には、液体組成物と接触されるかのいずれかである。あるいは、この液体組成物は、バリアによって噴霧体から分離されたチャンバ内に保持され得、このバリアは、液体組成物を送達するための噴霧体

によって付与される圧力に応答する。別の代替の実施形態において、このスプレー装置は、共分配弁およびシステムを有し得、この結果、2つの成分が、分配されるまで分離されたまま維持され得る。この生成物成分は、化学量論的量で分配され、そしてそれらが組織部位に送達されるように完全に混合される。例えば、溶媒中の泡状被覆剤の液体組成物は、それらが送達の際に共分配され、そして混合されるまで、生物学的に活性な薬剤から分離されて保持され得る。

#### 【 0 0 4 0 】

インサイチュで泡状創傷被覆剤を形成する組成物を用いて創傷を噴霧することに加えて、代替は、必要とされる場合に、包装および使用され得る泡状被覆剤を「予め形成する」ことである。この場合において、剪断力は、例えば、密閉された容器内で液体を攪拌することによって、あるいは回転混合デバイスを使用して液体を振動またはブレンドすることによって、液体組成物に加えられて、泡を形成する。

#### 【 0 0 4 1 】

( 創傷被覆剤の使用 )

本発明の創傷被覆剤 ( w o u n d   d r e s s i n g ) は、ヒトおよび獣医学の分野で多くの適用を有する。これらの配置済み形態 ( f o r m - i n - p l a c e ) の被覆剤は、戦場または他の危険な職場で生じるような、高度～中度の組織損失に関与する創傷の最初の処置のために特に有用である。このような場合、創傷被覆剤デバイスは、一旦大きい動脈噴出がターニケットまたはクランプによって減弱されれば、中度の出血を有する開放創傷を被覆および閉鎖するために用いられ得る。必要に応じて、創傷被覆剤は、トロンビンおよびフィブリンーゲンのような凝固カスケードのタンパク質を含み得、血液の流れを停止し、そして創傷被覆剤を保持する。

#### 【 0 0 4 2 】

本発明の泡状創傷被覆剤はまた、汚染を避け、そしてさらなる組織傷害を減じるために迅速な被覆を要する火傷のような、問題のある創傷に用いられ得る。また、この被覆剤は、腹膜のような腔を充填して、鈍的外傷によって傷害された、肝臓または脾臓のような器官に支持および止血を提供するために用いられ得る。

止血は、この病変に対して、膨張した泡状物が圧迫することによって発揮される圧力によってもたらされる。泡状の止血剤（例えば、トロンビン）は、処方物に添加されて、この泡状物の止血効果を増強する。

#### 【 0 0 4 3 】

創傷被覆剤に含まれる活性剤およびそれが創傷と接触して置かれる時間によって、泡状被覆剤は、所望の細胞性応答（例えば、線維増殖、血管新生、および上皮形成）を刺激するように用いられ得る。さらに、これらの被覆剤はまた、単に、泡形成の前に、この組成物中にこれらの活性な医薬を封入することによって、創傷部位に対して、治癒を強化する医薬である徐放性のビヒクル（例えば、増殖因子および抗生物質）として用いられ得る。

#### 【 0 0 4 4 】

本発明の泡状創傷被覆剤は、この泡状被覆剤が塗布されるべき動物の同じ種に由来するタンパク質を用いることによって全体として生体適合性にされ得る。従って、ヒトにおいて生体適合性である泡状創傷被覆剤組成物は、ヒトアルブミンおよび他のヒトタンパク質で生成される。

#### 【 0 0 4 5 】

（実施例）

（実施例 1）

（泡状被覆剤を分析するための物理的方法）

（泡状物の物理的特性：）

泡状物の開発の経過の間、単純な品質試験を用いて、異なる泡状処方物の粘着特性を比較する：泡状物の薄い層を 0.5 mm 厚のキャスト（ギプス）コラーゲンまたは回収したプロカイン皮膚移植の 10 × 10 cm のシートから 10 cm に保ったエアロゾル容器から噴霧する。次いで、これらを 40 °C に乾燥し、冷却し、そしてシリンダー中にステープルで留めた。ポリエチレンに付着したままの泡状物は、剥離もひび割れもなく、体の表面に対する付与のために十分粘着性でかつ弾性であるとみなされる。

#### 【 0 0 4 6 】

（泡状物のインビトロ排出および蒸気移動特性：）



泡状物を、3 cmの深さで水平にならされ、そしてカバーされた、米国標準試験篩（No. 60 250  $\mu$ m開口）上に噴霧する。排出の速度は、一定間隔で排出溶液を回収および秤量することによって室温で追跡する。4時間の排出後、この泡状物をはがし、そして40℃で恒量まで乾燥するためにオープン中にいれる。次いで乾燥した泡状物を、蒸気移動特性の決定のために用いる。蒸留水リザーバを秤量し、マス目上にシールする。この装置を乾燥オープン中に入れ、そして泡状層を通る水蒸気の移動を33℃で重量測定によって決定する。金属を通過する蒸気移動の速度もまた比較目的で測定する。

#### 【 0 0 4 7 】

（泡容積膨張係数：）

泡容積膨張係数（foam volume expansion index）は、特定の泡状組成物の能力を評価するために用いられ得る。さらに、特定のタンパク質が、泡を膨張し得るか否かを決定するために、そしてタンパク質の至適濃度を決定するために有用である。

#### 【 0 0 4 8 】

泡容積膨張係数とは、泡を形成するために用いた流体の容積を超える泡状物の容積と規定している。一般に、泡状物は、この泡状物を形成するために用いた流体組成物の容積よりも4～8倍膨張し、4～8の膨張係数を生じる。

#### 【 0 0 4 9 】

泡容積は、この泡状物を透明な目盛り付き容器中に形成する場合、この容積の視覚的検査によって直接測定され得る。より正確な泡状容積の評価は、間接的に可能である。この場合、この泡状物を、透明な目盛り付き容器中に形成し、泡状物を邪魔しない流体（例えば、水）を、この容器に加えて、測定可能なレベルの容積、すなわち「総容積」を得る。加えた流体を廃棄し、その容積を決定し、次いで総容積から差し引き、このようにして泡状物の容積を得る。

#### 【 0 0 5 0 】

（インピボにおける創傷からの水膨張に対する泡状物の効果）

4×4 cmの面積の完全深度皮膚を、麻酔したラットの剃毛した背中から切り取る。インレットチューブおよびアウトレットチューブ内の四角いプレキシグラ

スチャンバ (  $4 \times 5 \times 5 \text{ cm}$  ) を、切り出した面積を覆ってシールする。空気を分子ふるい ( B , D , H 型 4 A ケイ酸ナトリウム・アルミニウム ) に通し、次いで  $270 \text{ cm}^3 / \text{分}$  で容器を通過させる。パースペクスチャンバのインレットチューブおよびアウトレットチューブに結合した調節可能なフローメーターを用いることにより、空気流の不均一な速度を得る。容器に残る空気を、十分な量の分子ふるいを含有する U 型管を通過させ、この実験中に放出された全ての水蒸気を吸収する。分子ふるいによって捕獲した水蒸気を、一定間隔で秤量することによって決定する。各実験中に平行して切除創傷を有する 2 匹のラットを用いる : 1 匹のラットを、コントロールとして用い、そして他のラット上の創傷を、 $1 \text{ cm}$  の厚みの層の泡状物で覆う。切除創傷からの蒸気消失の測定を泡状物塗布の 1 時間後 ( この時点まで泡状層は完全に乾燥されていた ) に開始する。

#### 【 0 0 5 1 】

( 泡状マトリックスおよび溶液の抗菌特性 )

泡状物の静菌効果のアッセイは、ゾーン阻害 ( *zone inhibition* ) によって達成できる。直径  $2.7 \text{ cm}$  の中央ウェルを栄養性アガープレートから取り出して、以前に調製した泡状サンプルで充填する。 *Pseudomonas aeruginosa*、*Staphylococcus aureus*、および *Candida albicans* の院内単離体を、適切な栄養アガープレートに接種して、 $37^\circ\text{C}$  で 24 時間インキュベートする。結果は、中央ウェル以外の細菌なしゾーン ( *bacteria-free zone* ) の総幅の 6 回の測定値の平均である。この実験で用いた細菌接種の集団密度を、階段希釈および適切なアガー培地上へのプレートによって決定する。暗野コロニーカウンター ( *New Brunswick Scientific Co., Model C100* ) を用いてコロニーをカウントする。

#### 【 0 0 5 2 】

泡溶液の殺菌効果をアッセイするために、泡状物の階段希釈を、 $10^4$  細菌 /  $\text{ml}$  の細菌接種とともに 24 時間インキュベートし、次いでこれをコロニー発達のアッセイのためにプレートする。あるいは、泡溶液の完全強度および半分強度の希釈を、細菌培養物とともに接種する。0.5、15、30、60 および 12

0 分後に得たサンプルを、栄養溶液中に希釈して静菌効果をなくする。コントロール処理において、細菌を栄養溶液中に直接接種する。希釈した培養物を適切なアガー上にプレートし、37℃で24時間後のコロニー発達をアッセイする。

### 【 0 0 5 3 】

火傷創傷に対する泡状物の抗菌効果を、ラットにおいてインビボで試験し得る。麻酔したラットの剃毛した背中上に、炎で加熱した直径1cmのガラス円盤を10秒間あてがうことによって、4つの区域の火傷創傷を作成する。この創傷をガーゼの大きい切れ端で覆って、処置の引き続く取り外しを容易にする。処置は、吸収ガーゼパッド上に付与された1mlの*Staphylococcus aureus* ( $10^8$  細菌/ml) による、各創傷表面の別々の接種からなる。滅菌生理食塩水をコントロール処理に付与する。処置は、泡状物の塗布が、細菌培養物による汚染前または汚染後のいずれであるかによって変化する。結果は、少なくとも4つの別々の決定の平均である。

### 【 0 0 5 4 】

接種した創傷およびコントロールの創傷における汚染のレベルをガーゼシートプラス処置をまず取り除くこと、および次いで創傷皮膚の3平方センチの部分で0.5cmの深さまで切り取ることによって、決定する。切り取った部分を150mlの冷栄養溶液に無菌的に移して、泡状物の残りの抗菌活性を薄める。次いで、このフラスコを4℃で一晩インキュベートし、細胞分裂の実質的なレベルを阻害しながら、培養溶液への生物体の遊離を容易にする。次いで、細菌数をアッセイする前に、溶液のサンプルを階段希釈して、プレートし、そしてインキュベートする。各処置について、4～8つの複製を作成する。

### 【 0 0 5 5 】

\*\*\*\*\*

上記の実施例は、この組成物の好ましい実施形態を実施および使用方法の完全な開示および説明を、当業者に提供するが、本発明者らが本発明と考えている発明の範囲を限定する意図ではない。本発明を実行するための上記の方法の改変は、当業者に自明であり、添付の特許請求の範囲の範囲内であることが意図される。本明細書中に引用される全ての刊行物、特許および特許出願は、このよう

な刊行物、特許または特許出願が、本明細書において参考として援用されることが詳細かつ個々に示されているかのように、本明細書において参考として援用される。

## 【 国 際 調 査 報 告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		onal Application No PCT/US 01/05624
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 A61L15/42 A61L15/12 A61L26/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, PAJ, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4 427 651 A (STROETMANN MICHAEL) 24 January 1984 (1984-01-24)  claims	1, 2, 10, 11, 16-18, 24, 26-28
X	WD 98 02098 A (BAXTER INT) 22 January 1998 (1998-01-22)  claims	1, 2, 10, 11, 16-18, 24, 26-28
P, X	WO 01 05443 A (DUBOIS MICHEL MARIE ; GRAVAGNA PHILIPPE (FR); IMEDEX BIOMATERIAUX ( ) 25 January 2001 (2001-01-25) page 9, line 21 - line 32; claims  -/-	1, 2, 10, 11, 16-18, 24, 26-28
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search  12 July 2001		Date of mailing of the international search report  20/07/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5816 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  ESPINOSA, M

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/US 01/05624

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 96 17595 A (GILTECH LTD ; GILCHRIST THOMAS (GB); GILCHRIST EILIDH (GB)) 13 June 1996 (1996-06-13) page 8, line 4 - line 20; claims -----	1-28
A	WO 99 66964 A (TAMMISHETTI SHEKHARAM ; PENDHARKAR SANYOG MANOHAR (US); SURGICAL SE) 29 December 1999 (1999-12-29) claims -----	1-28
A	US 5 583 114 A (LEWIS TERRY W ET AL) 10 December 1996 (1996-12-10) claims; examples -----	1-28
A	EP 0 747 420 A (ALBANY INT RESEARCH) 11 December 1996 (1996-12-11) claims; examples -----	1-28
A	US 5 733 563 A (FORTIER GUY) 31 March 1998 (1998-03-31) claims -----	1-28

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

US 01/05624

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4427651 A	24-01-1984	AT 20824 T	15-08-1986
		AT 13810 T	15-07-1985
		DE 3171072 D	25-07-1985
		DE 3175003 D	28-08-1986
		EP 0068047 A	05-01-1983
		EP 0068048 A	05-01-1983
		EP 0068149 A	05-01-1983
		JP 1018054 B	03-04-1989
		JP 58038216 A	05-03-1983
		JP 1018055 B	03-04-1989
		JP 58038217 A	05-03-1983
		JP 58036545 A	03-03-1983
		JP 61039824 B	05-09-1986
		JP 61178927 A	11-08-1986
		US 4427650 A	24-01-1984
		US 4442655 A	17-04-1984
WO 9802098 A	22-01-1998	AU 3720097 A	09-02-1998
		EP 0917444 A	26-05-1999
WO 0105443 A	25-01-2001	FR 2796558 A	26-01-2001
		AU 7004900 A	05-02-2001
WO 9617595 A	13-06-1996	AU 3990095 A	26-06-1996
		CA 2203367 A	13-06-1996
		EP 0797430 A	01-10-1997
		JP 10509724 T	22-09-1998
		US 6187290 B	13-02-2001
WO 9966964 A	29-12-1999	AU 4711599 A	10-01-2000
		EP 1089769 A	11-04-2001
US 5583114 A	10-12-1996	AU 2870895 A	22-02-1996
		CA 2194681 A	08-02-1996
		EP 0772464 A	14-05-1997
		JP 10503102 T	24-03-1998
		WO 9603159 A	08-02-1996
EP 0747420 A	11-12-1996	AU 708720 B	12-08-1999
		AU 3174195 A	19-12-1996
		BR 9505035 A	21-10-1997
		CA 2164253 A	08-12-1996
		CN 1137540 A	11-12-1996
		FI 953789 A	08-12-1996
		JP 8337674 A	24-12-1996
		NO 953115 A	09-12-1996
		US 5851461 A	22-12-1998
US 5733563 A	31-03-1998	AU 1060495 A	19-06-1995
		WO 9515352 A	08-06-1995
		EP 0705298 A	10-04-1996

フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	ターマコード (参考)
A 6 1 K	47/12	A 6 1 K	47/12
A 6 1 L	15/16	A 6 1 P	3/02
A 6 1 P	3/02		5/00
	5/00		7/04
	7/04		15/18
	15/18		17/02
	17/02		23/02
	23/02		29/00
	29/00		31/00
	31/00		31/04
	31/04		31/10
	31/10		33/00
	33/00	A 6 1 L	15/01
(81) 指定国	EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW		
Fターム(参考)	4C076 AA24 AA29 BB31 CC01 CC04 CC14 CC19 CC22 CC30 CC31 CC32 CC33 CC34 CC35 DD22 DD43 EE41 FF16 FF36 FF54 GG45 GG46 GG47 4C081 AA03 AA12 BA12 BA14 BC02 CD111 CE02 CE03 CF21 DA16 EA02 EA12 4C084 AA17 MA13 MA44 MA63 NA02 NA03 ZA08 ZA53 ZA86 ZA89 ZA90 ZB11 ZB32 ZB33 ZB35 ZB37 ZC03 ZC22		



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 アルブミンおよび少なくとも1つのさらなるタンパク質を含む、泡状創傷被覆剤。

【請求項2】 前記アルブミンがヒトアルブミンである、請求項1に記載の創傷被覆剤。

【請求項3】 前記少なくとも1つのさらなるタンパク質がリゾチームである、請求項1に記載の創傷被覆剤。

【請求項4】 前記少なくとも1つのさらなるタンパク質が金属キレートタンパク質である、請求項1に記載の創傷被覆剤。

【請求項5】 前記金属キレートタンパク質がトランスフェリンである、請求項4に記載の創傷被覆剤。

【請求項6】 さらにカルシウムイオンを含む、請求項4に記載の創傷被覆剤。

【請求項7】 さらに酸を含む、請求項1に記載の創傷被覆剤。

【請求項8】 前記酸が、酒石酸である、請求項7に記載の創傷被覆剤。

【請求項9】 さらに緩衝剤を含む、請求項1に記載の創傷被覆剤。

【請求項10】 さらに生物学的活性因子を含む、請求項1に記載の創傷被覆剤。

【請求項11】 剪断力をかけられる場合に膨張して泡になる創傷被覆剤を調製するための組成物であって、該組成物は、アルブミンならびに、リゾチーム、金属結合タンパク質およびオボムチンより選択される少なくとも1つのさらなるタンパク質を含む、組成物。

【請求項12】 前記少なくとも1つのさらなるタンパク質がリゾチームである、請求項11に記載の組成物。

【請求項13】 前記少なくとも1つのさらなるタンパク質が金属結合タンパク質である、請求項11に記載の組成物。

【請求項14】 前記金属結合タンパク質がトランスフェリンである、請求項13に記載の組成物。

【請求項15】 さらに酒石酸を含む、請求項11に記載の組成物。